第 27 卷　第 1 期　腐蚀科学与防护技术　Vol.27　No.1
2015年 1 月　CORROSION SCIENCE AND PROTECTION TECHNOLOGY　Jan.　2015

集输管线硫酸盐还原菌诱导生物矿化作用调查

刘宏伟[1]　刘宏芳[1]　秦　双[1]　韩　霞[2]　王田丽[2]

1. 华中科技大学化学与化工学院 材料化学与服役失效湖北省重点实验室　武汉　430074;
2. 中国石化石油工程设计有限公司　东营　257026

摘要：利用扫描电镜 (SEM)、能谱、X射线衍射仪 (XRD) 和超景深三维立体显微镜等表面分析手段，调查研究油田污水集输管线材料的腐蚀和结垢行为。实验结果表明，暴露在没有添加杀菌剂的污水中30 d的试样表面形成了大量的垢状沉淀物，局部放大可以发现以胞外聚合物为主的生物膜覆盖在试样表面，此时生物膜的厚度高达169.6 μm，生物膜中含碳酸盐垢和细菌代谢产物硫铁化合物，且膜下基体材料局部腐蚀孔深度达到23.96 μm。在连续添加100 mg/L有机胍类杀菌剂1个月后，试样表面覆盖物中以无机矿物为主，且膜层厚度较未添加的薄，厚度为48.6 μm，膜下腐蚀较均匀，局部腐蚀轻微。硫酸盐还原菌参与的生物作用是管线局部腐蚀穿孔的主要原因之一。

关键词：硫酸盐还原菌　生物矿化　胞外聚合物　生物膜

中图分类号：TG174　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1002-6495(2015)01-0007-06

Investigation of Biomineralization Induced by Sulfate Reducing Bacteria in Sewage Gathering Pipelines in Oilfield

LIU Hongwei[1], LIU Hongfang[1], QIN Shuang[1], HAN Xia[2], WANG Tianli[2]

1. Hubei Key Laboratory of Materials Chemistry and Service Failure, School of Chemistry and Chemical Engineering, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China;
2. SINOPEC Oilfield Engineering Design Corporation, Dongying 257026, China

Abstract: The situatuion concering corrosion and scaling of the inner wall of sewage gathering pipelines in oil field was investigated by means of scanning electron microscopy (SEM) with energy dispersive X-ray spectrometry (EDS), X-ray diffracmeter (XRD) and three-dimensional stereoscopic microscopy. The results indicated that after exposure to the sewage for 30 d a scale of deposits ca 169.6 μm in thickness could be observed on the surface of test samples, which consisted maily of extracellular polymeric substance with iron sulfides, the product of sulfate reducing bacteria metabolism, while beneath the scale the pipeline steel suffered from pitting corrosion with a maximum pit depth 23.96 μm; however after exposure for the same period in the same medium but with continuously adding organic guanidine bactericide of a dose 100 mg/L, the thickness of corrosion products scale was lowed to only ca 48.6 μm, besides, the corrosion of the substrate beneath the scale was light. It may be concluded that one of the reasons responsible to the localized perforation of pipelines was the SRB induced corrosion.

Key words: sulfate reducing bacteria, biomineralization, extracellular polymeric substance, biofilm

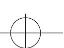
定稿日期：2014-04-30

基金项目：国家自然科学基金项目 (51171067) 和深圳市基础研发基金项目 (JC201005310696A) 资助

作者简介：刘宏伟，男，1988年生，博士生

通讯作者：刘宏芳，E-mail：hongf_liu@163.com，研究方向为材料与环境化学，应用环境微生物学

DOI：10.11903/1002.6495.2014.107



1 前言

微生物矿化是指由微生物控制和操纵的沉积作用,这类微生物主要包括细菌和藻类等[1,2]。微生物诱导生物矿化普遍存在于自然界中,在生物矿化过程中,微生物一方面起着电子传递界面的作用,另外一方面微生物的代谢产物也会诱导矿化物的形成[3]。微生物诱导生物矿化主要分为两个过程,首先细胞壁通过静电作用将水环境中的金属离子吸附在阴离子表面,包裹大量有机物,然后在微生物作用下以此为成核点,矿物质晶体逐渐生长[4]。根据微生物种类不同,微生物诱导生物矿化机理也不相同。在氧充足的环境中,发挥矿化作用的微生物主要是好氧微生物,比较有代表性的是铁氧化菌。铁氧化菌在氧的存在条件下,可以将Fe氧化成$Fe(OH)_3$沉底,作为副产物排出体外,$Fe(OH)_3$进一步向更稳定的Fe_2O_3状态转变[5]。在厌氧状态下,厌氧微生物发挥着重要的作用,其中硫酸盐还原菌是典型之一,其主要的矿化产物是$CaCO_3$和FeS[6]。在自然环境中,厌氧和好氧微生物之间的协同作用在诱导生物矿化过程中也发挥着巨大的作用。另外,微生物产生的大量的胞外聚合物对于金属离子也具有很强的络合作用[7]。Braissant等[8]研究发现从硫酸盐还原菌的培养液中分离的胞外聚合物对钙离子的最大固定量达到120~150 mg Ca/g EPS。

在油田集输管线内,由于油田产出水高矿化度特性,集输系统压力、温度的变化极易导致结垢沉淀,不仅直接影响管线流速、流量的变化,且易导致垢下腐蚀。硫酸盐还原菌 (SRB) 是广泛参与生物电化学过程的厌氧微生物,且普遍存在于油田产出水中,其代谢过程中会产生胞外聚合物,对介质中金属离子具有络合作用[9,10]。因此SRB不仅会影响碳酸盐的沉积过程,而且生物聚合物对垢层的结构和垢下腐蚀规律也会产生重要影响[9-11]。叶秦等[12]研究了油田污水中碳钢表面SRB生物膜的生长规律及腐蚀电化学行为,结果表明,在碳钢表面首先形成铁氧化物;随着SRB生物膜的形成逐步转变成致密硫化亚铁,即腐蚀产物的内层;随后,生物膜在第8 d趋于成熟,大量含碳胞外聚合物组成疏松外层膜,至第11 d部分生物膜脱落造成基体表面有裸露点蚀坑出现。

实验室条件下SRB生物膜下腐蚀的研究报道较多[13-15],有关油田现场SRB诱导的生物垢膜成因及垢膜下的腐蚀报道较少。另外,胜利油田污水具有较高的细菌含量,集输管线结垢和腐蚀较为严重[16],对油田现场垢膜的成因及垢膜下腐蚀的控制尤其重要。本文通过扫描电镜、能谱分析、超景深三维立体显微镜等方法和技术手段对胜利油田现场产出水中集输管线结垢现象进行调查,并对管线内壁垢层组成、结垢及膜的厚度进行检测,研究了膜下腐蚀行为,为垢膜以及垢膜下腐蚀的控制提供依据。

2 实验方法

实验中使用的是油田集输管线普遍采用的Q235钢,试样的主要成分 (质量分数,%) 为:C≤0.3、Si≤0.01、Mn≤0.42、S≤0.029、P≤0.01,余为Fe。试样的是直径为18 mm、高度为30 mm的圆柱体,将其镶嵌在集输管线内壁,用于生物膜和垢样以及生物膜中SRB菌量的测定,定期进行取样观察。

集输管线内水样来自于胜利油田,取出水样后立即转移到灭菌容器中,同时立即转移到实验室进行进一步分析,水样中pH值采用pH计测定,Ca^{2+}、Cl^-、Fe^{2+}含量的测定采用国标法,总盐度采用重量法测定,腐蚀速率由腐蚀失重法测定,溶解氧和CO_2分别采用溶解氧测定仪和固定法测定。水样的分析结果表明,溶液的pH值为7.26,Ca^{2+}、Cl^-、CO_2、溶解氧和总盐度 ($mg\cdot L^{-1}$) 分别为:295.2,6622.1,1.45,35.2,0.08和11837.7,油田集输管线水样中SRB菌量的浓度为2.5×10^3 cells/mL,生物膜中SRB的菌量为1.2×10^3 cells/cm^2。水样的矿化度很高,且含有大量的SRB,SRB菌量的测定采用MPN法[17]。实验室静态挂片失重结果表明,水样中Q235碳钢的腐蚀速率为:0.039 mm/a。

从胜利油田现场取样后立即转移到实验室,通过Sirion 200场发射扫描电镜 (FSEM)、GENESIS能谱分析仪 (EDS) 和 X'Pert PRO X射线衍射仪 (XRD) 对试样生物膜的表面形貌、成分及去除腐蚀产物之后表面形貌进行表征分析,生物膜的厚度通过超景深三维显微镜系统VHX-1000进行测定。

3 结果与讨论

3.1 油田现场取样生物膜研究

图1是从油田现场取样后的样品表面生物矿化垢膜SEM像和EDS结果。从图1a可以看出,在试样被放置油田集输管线内壁30 d之后,试样表面覆盖着一层厚厚的多孔生物膜垢,生物膜垢中的孔可以增加介质中营养物质向膜下运移,促进基体的局部腐蚀,同时使生物膜垢的保护性降低[18]。另外,有少量的片状物覆盖在生物膜上,片状颗粒物可能是介质中无机物在试样表面由自矿化作用形成的无机矿化物[19]。从能谱图可以看出,垢膜的主要组成元素 (质量分数,%) 分别为:C 48.17,O 15.51,S 5.26,Si 0.41,Ca1.93,Fe 18.55。从能谱结果可以看出S的

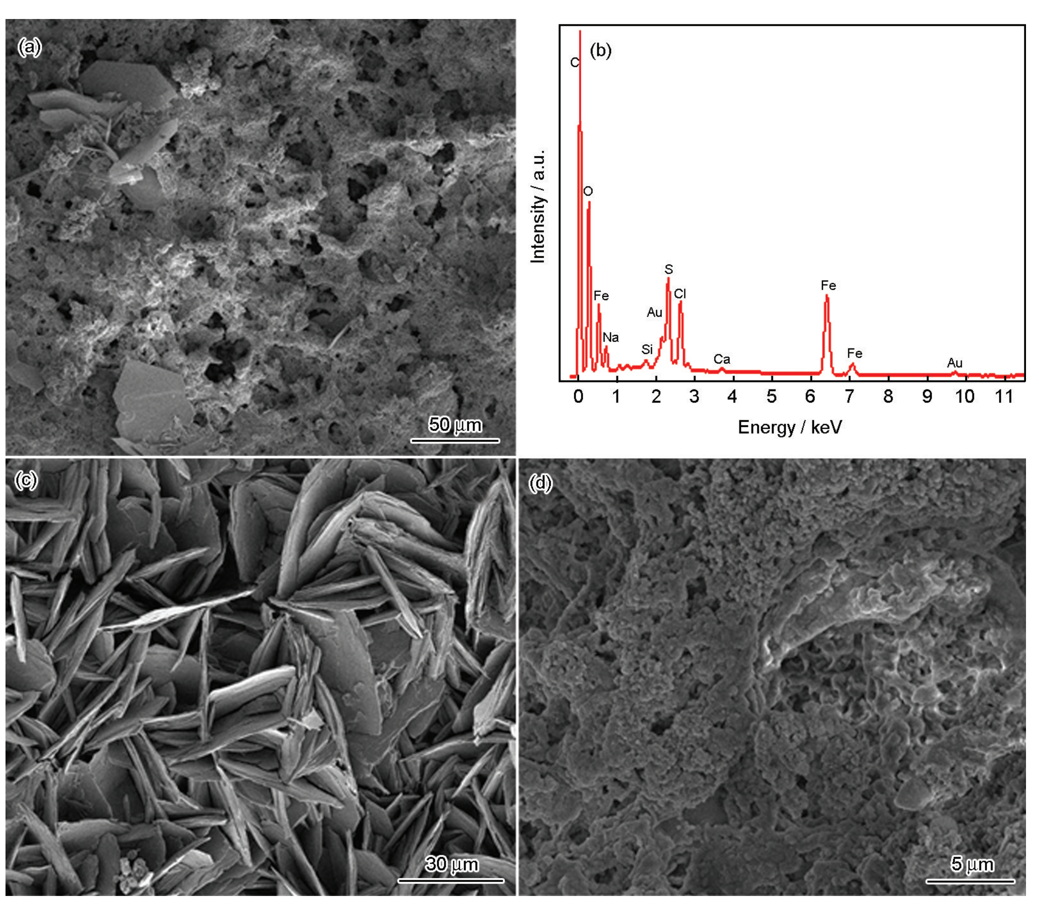


图1 试样置于管线内壁30 d后局部生物膜的SEM像及EDS结果

Fig.1 SEM images and EDS analysis of biofilm after 30 d (a) region of total morphology of biofilm, (b) EDS analysis of biofilm, (c) region of scaling and mineralization of mineral salts, (d) main region of EPS cover

含量较高,质量分数达到5.26%,同时含有大量的有机物,这也说明管线污水介质中存在大量的SRB,与水样中SRB菌量的测定结果相符,而且SRB对垢膜的生长起到了重要的作用。生物垢膜中含有少量的Si和Ca,表明,在一定的温度和压力下,管线污水介质中无机盐的自矿化作用也发挥着重要作用[19]。从试样表面的局部扫描电镜图 (图1c和d) 可以看出,有大量的完整晶型的片状物质以及黏性物质存在,这一方面与上述无机盐自矿化作用相符,另外一方面也说明了SRB产生了大量的胞外聚合物,而且胞外聚合物在矿化过程中起到了重要的作用[20-22],胞外聚合物具有很强的络合能力,能够将多种无机金属离子固定下来[8],另外,胞外聚合物具有很高的黏性,可以吸附无机矿化物,形成复杂的生物膜垢。

图2是生物膜垢样的超景深三维立体图,从图中可以看出,生物膜局部厚度高达169 μm,且生物膜垢的厚度分布相对不均一,说明生物膜的形成是一个动态非均匀过程,这与SRB在管线内壁特定的活性位点吸附有关。

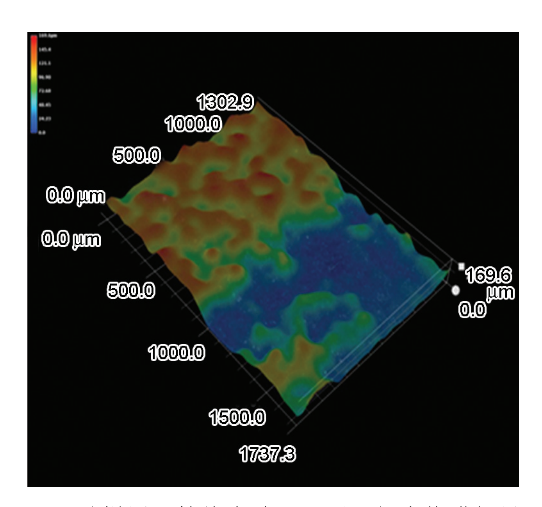


图2 试样置于管线内壁30 d后局部生物膜超景深三维立体图

Fig.2 Three-dimensional stereogram of biofilm after 30 d

3.2 加入杀菌剂后油田现场取样生物膜研究

油田现场实验采取连续投加100 mg/L有机胍类杀菌剂,加入杀菌剂30 d后,污水介质中SRB的菌量为1.2 cells/mL,SRB已经大量死亡,而且杀菌

剂的杀菌效果较好。加入杀菌剂30 d后，暴露在污水中的试样表面膜垢形貌如图3a。从图3a中可以看出，在试样的局部区域仍能观察到微生物的迹象，垢膜样的形貌比较单一，有裂缝出现，可能是因为垢膜中含有的有机物量较少，在干燥过程中无机矿化物脱水开裂引起。从能谱分析 (图3b) 可以看出，生物膜垢样的主要成分 (质量分数，%) 有：C 6.60、O 27.66、S 1.57、和Fe 64.17。由能谱结果可以看出O、Fe含量较高，而C、S含量较低，表明生物膜垢样的主要组成是铁氧化物，含有少量的硫铁化合物和有机物，进一步说明生物膜内还有少量的SRB的存在，与菌量测试结果相符。添加杀菌剂能够对浮游细菌有抑制作用，水体中SRB菌量达到注水标准，低于25个/mL，但生物膜中腐蚀产物中仍存在少量的硫铁化合物，说明该类杀菌剂的加入量不足以完全控制输水系统中的SRB，尤其是生物膜中的SRB，生物膜的屏障作用可以阻挡杀菌剂的渗入[23]，需要优化添加工艺，可以考虑冲击式加药或进一步增大杀菌剂的用量等。另外，在加入杀菌剂之后，SRB在整个矿化过程中所起到的作用已经比较小了，整个矿化过程主要以无机矿化为主。本文使用的有机胍类杀菌剂具有一定的缓蚀作用，缓蚀率在20%左右，缓蚀率较低。因此，可以判断试样表面的腐蚀主要是由微生物腐蚀引起的。

图4是加入杀菌剂之后试样表面膜垢三维立体图，可以看出，在SRB大量被杀死之后，试样表面膜垢的厚度仅为48 μm，远远小于不加杀菌剂时生物膜垢样的厚度169 μm。生物膜垢在加入杀菌剂前后厚度的变化也说明SRB在矿化过程中起着明显的主导作用，是加速生物膜垢形成的主要因素之一。

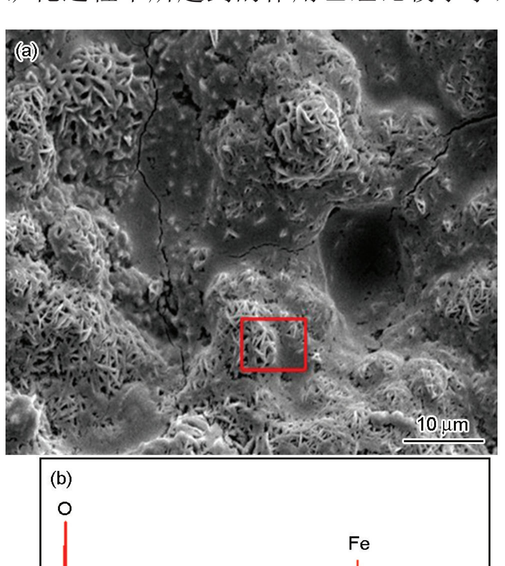
综上分析结果可以看出，硫酸盐还原菌在集输管线内壁生物膜垢样的形成上起到很关键的作用。

3.3 试样表面腐蚀产物XRD分析

图5是30 d后油田集输管线内壁试样腐蚀产物的XRD谱。由图5a可以看出，加入杀菌剂之后，试样表面的腐蚀产物以FeOOH为主，结垢较弱，与SEM和EDS分析 (图3) 结果相符。由图5b可以看出，没有加入杀菌剂时，主要腐蚀产物以FeS、Fe_2O_3和$FeSiO_3$为主，同时含有大量的无定型物质，与SEM和EDS (图1) 分析结果以及污水介质中SRB菌量测定结果相符，进一步说明在整个矿化过程中SRB起到了主导作用。

3.4 腐蚀形貌分析

试样表面去除腐蚀产物后，添加杀菌剂和未加杀菌剂的基体腐蚀形貌见图6a和b。试样表面3D形貌观察显示 (图6b)，未添加杀菌剂生物膜下腐蚀形态以点蚀为主，呈纵向深挖状态，挂片周期内最大蚀孔深度可达23.96 μm。这与生物膜内EPS对基体材料阳极溶解[20]具有促进作用以及SRB代谢产物硫铁化合物直接参与腐蚀过程有关。加入杀菌剂之



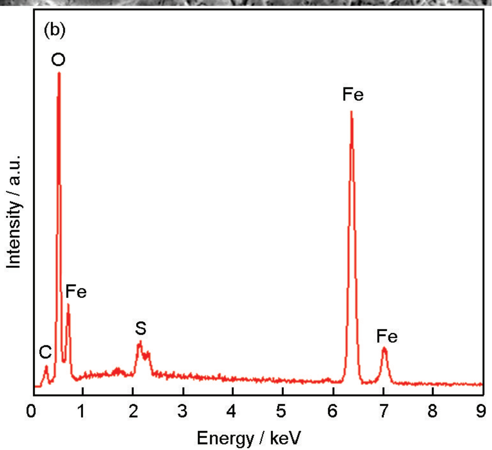


图3 加入杀菌剂后管线内壁试样30 d后局部生物膜的SEM像及EDS结果

Fig.3 SEM image (a) and EDS analysis (b) of biofilm with adding microbicide after corrosion for 30 d

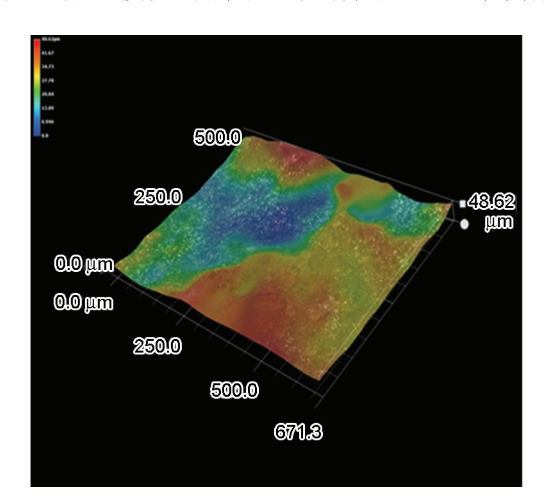


图4 加入杀菌剂30 d后管线内壁试样三维立体生物膜图

Fig.4 Three-dimensional stereogram of biofilm after corrosion for 30 d

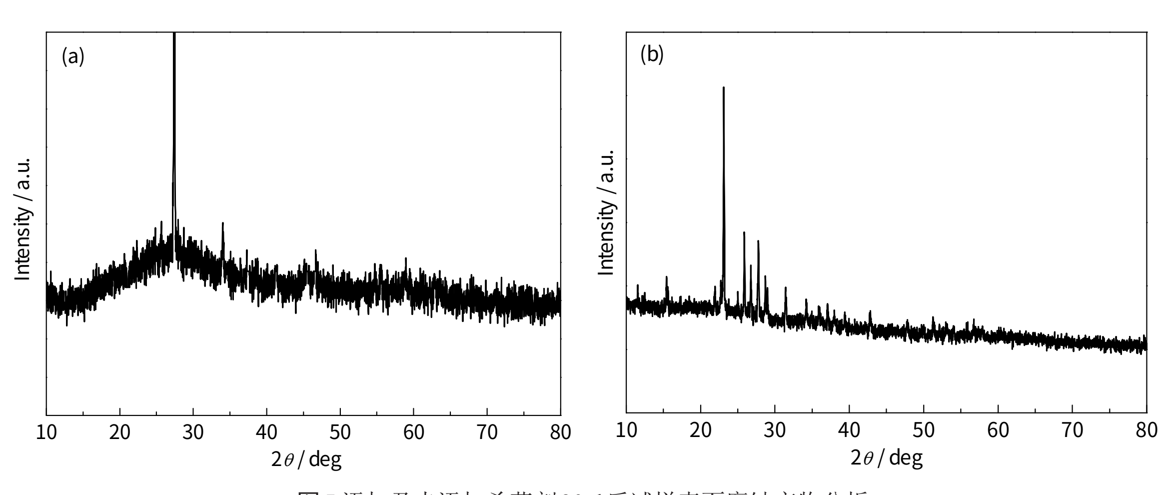


图5 添加及未添加杀菌剂30 d后试样表面腐蚀产物分析

Fig.5 XRD analysis of corrosion products with (a) and without microbicide (b) after corrosion for 30 d

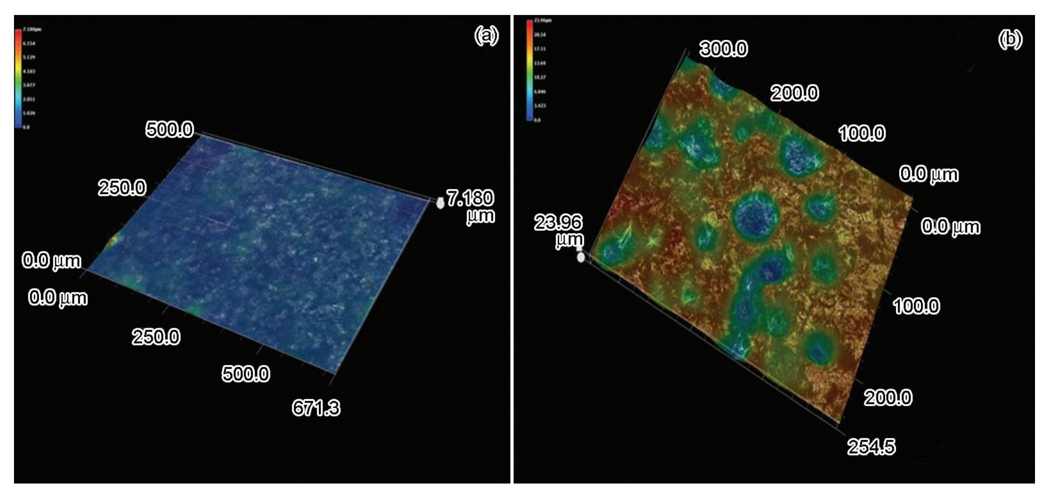


图6 添加及未添加杀菌剂30 d后管线内壁试样三维立体腐蚀形貌图

Fig.6 Three-dimensional stereogram of corrosion morphologies with (a) and without microbicide (b) after corrosion for 30 d

后，试样表面较为平整，无明显的局部腐蚀图6a。加入杀菌剂前后，试样表面腐蚀形貌的差异性明显，说明生物膜垢中SRB能够显著促进基底点蚀的发生，杀菌剂对SRB引起的腐蚀具有明显的抑制作用。

4 结论

污水介质中SRB菌量在加入杀菌剂前后分别为：2.5×10^3 和1.2 cells/mL，杀菌剂显著抑制了SRB的生长。试样表面生物膜垢的厚度在加入杀菌剂之后明显变小，不到未加杀菌剂之前生物膜垢厚度的1/3，SRB在诱导生物矿化上起到了重要的作用，在集输管线中，生物诱导矿化和无机矿物质的自矿化作用同时存在，生物矿化起主导作用。生物矿化膜下局部腐蚀严重。

参考文献

[1] Lowenstam H A, Weiner S. On Biomineralization [M]. Oxford: Oxford University Press, 1989

[2] Addadi L, Raz S, Weiner S. Taking advantage of disorder: Amorphous calcium carbonate and its roles in biomineralization [J]. Adv. Mater., 2003, 15(12): 959

[3] Weiner S, Dove P M. An overview of biomineralization processes and the problem of the vital effect [J]. Rev. Mine. Geochem., 2003, 54(1): 1

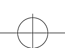
[4] Komeili A. Molecular mechanisms of compartmentalization and biomineralization in magnetotactic bacteria [J]. FEMS Microbiol. Rev., 2012, 36(1): 232

[5] Miot J, Benzerara K, Morin G, et al. Iron biomineralization by anaerobic neutrophilic iron-oxidizing bacteria [J]. Geochim. Cosmochim. Acta, 2009, 73(3): 696

[6] Heidelberg J F, Seshadri R, Haveman S A, et al. The genome sequence of the anaerobic sulfate-reducing bacterium desulfovibrio vulgaris hildenborough [J]. Nature Biotechnol., 2004, 22(5): 554

[7] Spadafora A, Perri E, McKenzie J A, et al. Microbial biomineralization processes forming modern Ca. Mg carbonate stromatolites [J]. Sedimentology, 2010, 57(1): 27

[8] Braissant O, Decho A W, Dupraz C, et al. Exopolymeric substances of sulfate-reducing bacteria: Interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals [J]. Geobiology, 2007, 5(4): 401



[9] Fan M M, Liu H F, Dong Z H. Microbiologically influenced corrosion of X60 carbon steel in CO_2-saturated oilfield flooding water [J]. Mater. Corros., 2013, 64(3): 242

[10] 周平, 秦双, 叶琴等. 油田污水中碳钢表面生物膜的生长监测及控制 [J]. 材料保护, 2013, 46(11): 20

[11] 范梅梅, 刘宏芳. 二氧化碳对X60钢微生物腐蚀行为影响 [J]. 腐蚀科学与防护技术, 2012, 24(2): 107

[12] 叶琴, 李克娟, 郭佩佩等. 油田污水中碳钢表面生物膜生长规律及腐蚀电化学行为 [J]. 腐蚀科学与防护技术, 2013, 25(3): 195

[13] Coutinho C M L M, Magalhães F C M, Araúj J T C. Scanning electron microscope study of biofilm formation at different flow rates over metal surfaces using sulphate-reducing bacteria [J]. Biofouling, 1993, 7(1): 19

[14] Zhang C, Wen F, Cao Y. Progress in research of corrosion and protection by sulfate-reducing bacteria [J]. Proc. Environ. Sci., 2011, 10: 1177

[15] Venzlaff H, Enning D, Srinivasan J, et al. Accelerated cathodic reaction in microbial corrosion of iron due to direct electron uptake by sulfate-reducing bacteria [J]. Corros. Sci., 2013, 66: 88

[16] 王玉江. 腐蚀控制技术在胜利油田地面工程的应用 [J]. 腐蚀科学与防护技术, 2012, 24(5): 433

[17] Videla H A. Manual de Biocorrosion [M]. Boca Raton: CRC Press, 1996

[18] Gonzalez J E G, Santana F J H, Mirza-rosca J C. Effect of bacterial biofilm on 316SS corrosion in natural seawater by EIS [J]. Corros. Sci., 1998, 40(12): 2141

[19] 舒勇, 熊春明, 张建军. 高含水期油田集输系统腐蚀结垢原因及综合防治技术 [J]. 腐蚀科学与防护技术, 2010, 22(1): 67

[20] Dong Z H, Liu T, Liu H F. Influence of EPS isolated from thermophilic sulphate-reducing bacteria on carbon steel corrosion [J]. Biofouling, 2011, 27(5): 487

[21] Decho A W. Overview of biopolymer-induced mineralization: What goes on in biofilms? [J]. Ecolog. Eng., 2010, 36(2): 137

[22] 刘宏芳, 汪梅芳, 许立铭等. 钙离子对碳钢微生物腐蚀的影响 [J]. 中国腐蚀与防护学报, 2004, 24(1): 45

[23] Singh P K, Parsek M R, Greenberg E P, et al. A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development [J]. Nature, 2002, 417: 552

